Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Untersuchungen über Plättchenfunktion und Blutviskosität bei M. RAYNAUD und Sklerodermie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München vorgelegt

von

Thomas Neuhann

aus

München

München 1970

Referent: Prof. Dr. Hans Hess
Korreferent: Prof. Dr. W. Seitz
Dekan: Prof. Dr. E. Kraft

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 7. 70

UNIV. LEIDEN BIBL.

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. *W. Seitz*)

Untersuchungen über Plättchenfunktion und Blutviskosität bei M. Raynaud und Sklerodermie

Von *Th. Neuhann*

Mehr als ein Jahrhundert nach dem Erscheinen der Promotionsarbeit von *Maurice Raynaud* ist die Ätiologie der sog. „funktionellen" akralen Gefäßverschlüsse noch weit von einer Klärung entfernt. Der vorliegende Bericht untersucht die Zusammenhänge bestimmter hämostatischer und hämodynamischer Faktoren mit dem pathologischen Geschehen bei primärem und bei einer Form von sekundärem M. *Raynaud.*

Vieles spricht dafür, daß ein pathologisches Verhalten der Thrombozyten und Viskositätsänderungen im Blute eine maßgebliche Rolle beim Zustandekommen des *Raynaud*-Phänomens spielen.

Um dieser Frage nachzugehen, wurden die folgenden experimentellen Untersuchungen angestellt. Als Parameter für die Plättchenfunktion dienen hier die Plättchenagglutination — d. i. das Verklumpen der Plättchen untereinander — und die Plättchenadhäsivität — d. i. das Haftvermögen der Thrombozyten an plättchenfremden Oberflächen. Das bei Sklerodermie auftretende *Raynaud*-Phänomen wurde als Beispiel für die sekundäre Form gewählt.

Methodik

Plättchenagglutination. Die Messung erfolgte mit Hilfe des Plättchenagglutinationstestes (PAT) nach *Breddin.*

Unter Vorlage von 2 ccm Na-citr. 3,8% wurde den Probanden venöses Blut aus der Ellenbeuge entnommen.

Plättchenreiches Plasma (PRP) wurde durch spontane Sedimentation von 1 Stunde Dauer, wenn dies nicht genügend PRP ergab, durch 5minütige Zentrifugation bei 1000 U/min gewonnen. Mit dem erhaltenen PRP wurde der PAT durchgeführt und in 5 Stufen ausgewertet.

Stufe 1: Vor und nach Rotation fast ausschließlich einzeln liegende Plättchen.

Stufe 2: Nach Rotation zunehmend reversible Aggregate, Einzelplättchen noch immer vorherrschend.

Stufe 3: Einzelplättchen nach Rotation vermindert, zahlreiche reversible, einzelne irreversible Aggregate.

Stufe 4: Nach Rotation weitgehend irreversible Aggregation, daneben reversible Aggregate. Einzelplättchen selten.

Stufe 5: Nach Rotation alle oder fast alle Plättchen irreversibel aggregiert.

Stufen 1 und 2 sind normal, Stufen 3 bis 5 sind Ausdruck einer gesteigerten Aggregationstendenz.

Die **Plättchenadhäsivität** wurde anhand des Plättchenadhäsionsindex (PAI) nach *Breddin* bestimmt.

Von dem für den PAT gewonnenen PRP wurde je ein Tropfen auf die beiden Seiten einer — für jede Messung aufs neue — silikonisierten *Bürker*-Kammer aufgebracht und die auf 1 mm² haftenden Plättchen unter dem Phasenkontrastmikroskop ausgezählt. Aus jeweils mindestens 2 Messungen wurde ein Mittelwert errechnet. Die Zahl der Thrombozyten in einem mm³ PRP wurde nach der herkömmlichen Methode (*Derlath*) gezählt.

Der Adhäsionsindex wird wie folgt berechnet:

$$\frac{\text{Zahl der pro mm}^2 \text{ haftenden Plättchen} \times 100}{\text{Zahl der Plättchen in 1 mm}^3 \text{ PRP}} = \text{PAI}$$

Zur Silikonisierung der Kammern wurde Silikonlösung SERVA verwendet.

Die **Blutviskosität** wurde in einem halbautomatischen Kugelfallviskosimeter nach *Reis* und *Müller* gemessen. Zur Untersuchung wurde venöses Nativblut aus einer ungestauten Armvene benutzt. In einem Abstand von jeweils 10 sec wurden Serienmessungen vorgenommen, deren erste 30 sec nach der Venenpunktion erfolgte. Die Werte werden vom Gerät in Fallzeiteinheiten à 20 msec angezeigt. Mit Hilfe einer Eichkurve können diese in Zentipoise umgerechnet werden. Die Meßgenauigkeit beträgt unter ± 2%.

Klinische Untersuchungen

Die Untersuchungen wurden in 3 Gruppen durchgeführt:

an klinisch gesunden Probanden: Studenten zwischen 19 und 25 Jahren

an Patienten, bei denen die klinische Diagnose „M. *Raynaud* sui generis" vorlag

an Patienten mit sekundärem *Raynaud*-Phänomen bei Sklerodermie

Je vor und nach einem Handbad von 10 Minuten Dauer in Wasser von 14 °C (kritische Temperatur nach *Lewis*) wurden bestimmt: Plättchenagglutinationstest, Plättchenadhäsionsindex und Blutviskosität.

Bei 4 weiteren gesunden Probanden wurde die Veränderung der Viskosität während der Einwirkung der Kälte folgendermaßen untersucht:

Den Probanden wurde Blut für eine Kontrollmessung entnommen. Ein Arm wurde nun bis kurz unterhalb der Ellenbeuge in 14 °C kaltes Wasser getaucht. Nach jeweils 5 und 10 Minuten wurde erneut Blut zur Messung entnommen, ohne daß der Arm aus dem Wasser genommen wurde. Hierauf wurde das Bad beendet und nach weiteren 2 Minuten die letzten Messungen vorgenommen.

PAT = Plättchenagglutinationstest
PRP = Plättchenreiches Plasma
PAI = Plättchenadhäsionsindex

Ergebnisse

Beim Gesunden besteht kein merklicher Einfluß der Kälte auf die **Aggregationstendenz,** die Unterschiede betragen höchstens $^{1}/_{2}$ Stufe, pathologische Werte werden, sofern sie nicht schon vorher bestanden, niemals erreicht.

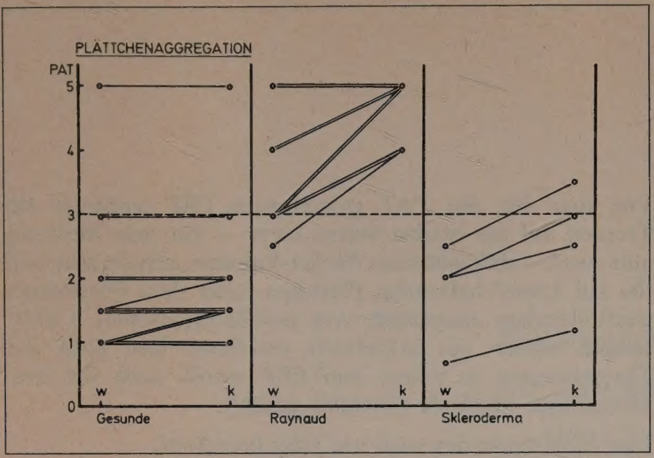

Abb. 1: Verhalten der Plättchenaggregation im Plättchenagglutinationstest nach *Breddin* vor und nach einem 10minütigen Handbad bei 14 °C.

w = vor Kältebelastung, k = nach Kältebelastung.
Ordinate: Stufen des Plättchenagglutinationstests.
Gestrichelt: Grenze normal — pathologisch.

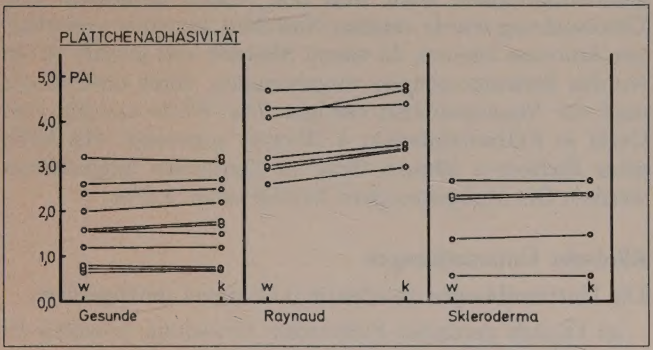

Abb. 2: Verhalten der Plättchenadhäsivität dargestellt am Plättchenagglutinationstest nach *Breddin* vor und nach einem 10minütigen Handbad von 14 °C.

Ordinate: Plättchenadhäsionsindex (PAI), übrige Bezeichnungen wie *Abb. 1.*

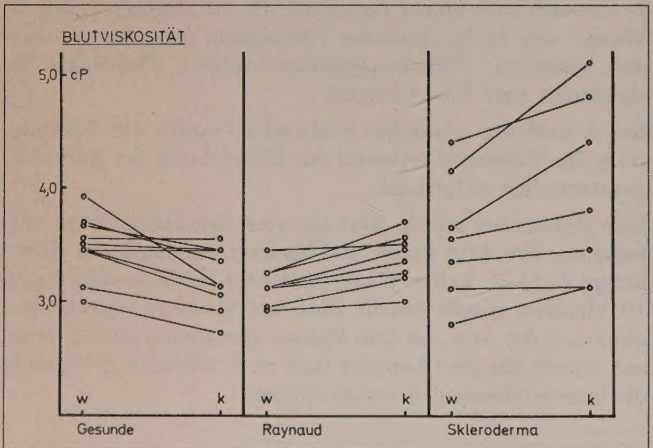

Abb. 3: Verhalten der Blutviskosität vor und nach einem 10-minütigen Handbad bei 14 °C.

Ordinate: Blutviskosität in Zentipoise (cP), übrige Bezeichnungen wie *Abb. 1.*

Bei Patienten mit M. *Raynaud* ist eine deutliche Steigerung der Verklumpungsneigung zu finden, das Ausgangsniveau liegt insgesamt höher als beim Gesunden und überwiegend im pathologischen Bereich.

Bei Sklerodermiekranken ist die Steigerungstendenz durch den Kältereiz mäßig, das Ausgangsniveau normal (*Abb. 1*).

Die **Veränderungen der Plättchenadhäsivität** sind insgesamt gleichsinnig zu denen des PAT. Eine exakt quantitative Aussage ist nicht möglich, da besonders in den Fällen gesteigerter Adhäsivität in zunehmendem Maße auch Aggregate haften, die eine exakte Auszählung unmöglich machen. Eine qualitative Gleichsinnigkeit der Veränderungen zu den in *Abb. 1* dargestellten ist jedoch sichtbar (*Abb. 2*).

Die **Blutviskosität** nimmt beim Gesunden in fast allen Fällen ab. Bei den *Raynaud*-Patienten steigt die Viskosität nach der Kälteeinwirkung leicht, aber merklich an, was bei den Sklerodermiekranken z. T. erhebliche Ausmaße erreicht (*Abb. 3*).

Beobachtet man den **Verlauf der Viskositätsänderungen** während der Kältebelastung, so erhält man beim Gesunden folgendes Bild: Die Viskosität fällt in den ersten 5 Minuten der Kälteeinwirkung ab, die Haut erscheint gerötet. Bei Fortsetzung des Armbades steigt die Viskosität unter Abblassung der Haut wieder an, um mit Beendigung des Kältereizes und dem Einsetzen einer sichtbaren reaktiven Hyperämie wieder abzufallen (*Abb. 4*).

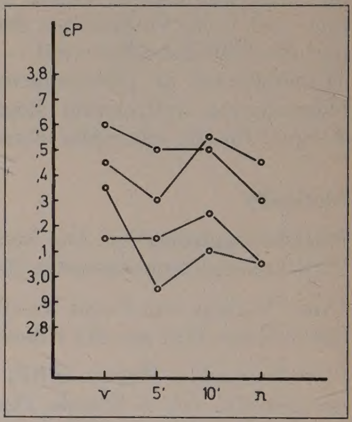

Abb. 4: Verhalten der Blutviskosität beim Gesunden während eines Handbades bei 14 °C.

Ordinate: Blutviskosität in Zentipoise (cP).

Abszisse: Zeit: v = vor Kälteexposition, 5' = nach 5minütiger Kälteeinwirkung, 10' = nach zehnminütiger Kälteeinwirkung, n = 2 min nach Beendigung der Kälteeinwirkung.

Diskussion der Ergebnisse

Die **Regulierung des Blutdurchflusses** in der terminalen Strombahn hängt wesentlich von der Viskosität des Blutes ab (*Dintenfass, Hess*). Die Kapillaren sind weitgehend starre Rohre (*Fung, Fung* und *Zweifach*), deren Fähigkeit, ihr Lumen zur Durchblutungsregelung verändern zu können, bezweifelt wird (*Hammersen*). Veränderungen der Durchblutung in diesem Bereich werden deshalb hauptsächlich durch Veränderungen der Blutviskosität hervorgerufen werden müssen. Daß solche Viskositätsänderungen tatsächlich kurzfristig erfolgen können, zeigen diese Untersuchungen sowie diejenigen von *Dintenfass.*

Die krankhafte Minderdurchblutung der Akren durch in vivo einwirkende Kälte bei *Raynaud*scher Krankheit kann nach den vorliegenden Untersuchungsbefunden folgendermaßen gedeutet werden:

Die Steigerung der Verklumpungs- und Haftneigung der Blutplättchen durch Kälte geht bei M. *Raynaud* mit einer Steigerung der Viskosität unter gleichen Umständen einher. Eine Minderdurchblutung der Akren bei diesen Patienten im Gegensatz zum Gesunden, bei denen die Plätt-

chenfunktionen unverändert bleiben, die Viskosität sogar sinkt, ist die Folge.

Die Veränderungen bei der Sklerodermie sind hierzu qualitativ gleichsinnig, die quantitativen Unterschiede — niedrigere Ausgangswerte und geringere Zunahme der Plättchenaggregation und der Plättchenadhäsion, hingegen teilweise wesentlich höhere und breiter gestreute Werte bei den Viskositätsmessungen — deuten auf die Beteiligung noch anderer Faktoren hin (*Hess* und Mitarb.).

Die in *Abb. 4* dargestellten Viskositätsveränderungen während der Kältebelastung bei Gesunden zeigen eine auffällige Parallelität zwischen den bei Kälteeinfluß auftretenden Phasen der Veränderung des Gefäßwandtonus, nämlich der initialen Kältedilatation, der darauffolgenden Kältekonstriktion und, nach Beendigung der Kälteexposition, der reaktiven Hyperämie durch Vasodilatation, und den Phasen der Viskositätsveränderungen.

Ähnliche Befunde werden von *Hess* et al. mitgeteilt: gesteigerter Wandtonus und Anstieg, verminderter Tonus und Abfall der Viskosität gehen miteinander einher. Da bei M. *Raynaud* eine abnorm starke Tonisierung der Gefäßwand durch einen Kältereiz erfolgt (*Ratschow* u. v. a.), liegt die Annahme nahe, daß der eben erwähnte Mechanismus ebenfalls beim Zustandekommen der Minderdurchblutung der Endstrombahn beim *Raynaud*-Kranken beteiligt ist.

Bevor die genannten Mechanismen jedoch wirksam werden können, muß eine Umsetzung des Kältereizes in abnorme Plättchenfunktion erfolgen. Die Wirkungsweise dieses Vorganges bleibt weiterhin im unklaren, ebenso wie die Ursache der Korrelation von Gefäßwandtonus und Blutviskosität.

Zusammenfassung

Bei einer Gruppe gesunder Probanden, einer Gruppe von Patienten mit primärem M. *Raynaud* und einer 3. Gruppe von Kranken mit sekundärem M. *Raynaud*-Phänomen bei Sklerodermie wurden je vor und nach einer definierten Kälteexposition eines Unterarmes die Plättchenagglutination, die Plättchenadhäsivität und die Blutviskosität gemessen, bei 4 weiteren gesunden Probanden wurde die Veränderung der Blutviskosität während der Kälteeinwirkung kontrolliert.

Die Plättchenagglutination ist beim Gesunden normal und wird durch einen Kältereiz nicht verändert, beim M. *Raynaud* ist der Ausgangswert bereits pathologisch erhöht, eine Kälteeinwirkung steigert ihn beträchtlich. Bei der Sklerodermie schließlich ist das Ausgangsniveau normal, die Steigerung durch Kälte mäßig. Die Plättchenadhäsivität verhält sich quantitativ gleichsinnig, ihr quantitativer Aussagewert ist stark begrenzt.

Die Blutviskosität wird beim *Raynaud*-Kranken merklich gesteigert, bei der Sklerodermie streuen Ausgangswerte und Steigerungsraten in einem relativ großen Bereich von normal bis stark erhöht. Bei Gesunden verändert sich die Viskosität während einer Kälteeinwirkung: nach einem initialen Absinken folgt eine Steigerung, der nach Beendigung des Reizes wiederum ein Abfall folgt. Diese Ergebnisse werden diskutiert und mit dem Erscheinungsbild des M. *Raynaud* in Zusammenhang gebracht.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. *Hans Hess* für liebenswürdige Anregungen und Unterstützung und Herrn Dr. *K. Breddin* und Mitarbeitern in Frankfurt.

Diese Arbeit wurde an der Medizinischen Fakultät der Universität München als Inauguraldissertation 1970 angenommen.

Literatur

Breddin, K.: Die Thrombozytenfunktion bei hämorrhagischen Diathesen, Thrombosen und Gefäßkrankheiten. Schattauer, Stuttgart, 1968.
Dintenfass, L.: Fluidity (internal viscosity) of the erythrocyte and it's role in physiology and pathology of circulation. Haematologia (Budapest) *2*, 19 (1968).
—: A preliminary outline of the blood high viscosity syndromes. Arch. intern. Med. *118*, 427 (1966).
Fung, Y. C.: Theoretical considerations of the elasticity of red cells and small blood vessels. Fed. Proc. *25*, 1761 (1966).
—, und Zweifach, B. W.: Elastic environment of the capillary bed. Circul. Res. *19*, 441 (1966).
Hammersen, F.: Zur Ultrastruktur der Kapillarwand. In: Frankfurter Angiol. Kolloquium, Kitzbühel: Die Endstrombahn. Schattauer, Stuttgart, 1966.
Hess, H.: Neue Überlegungen zur Physiopathologie obliterierender Angiopathien. 1. Zur Regulation der Durchblutung. 2. Zur Pathogenese und Therapie. Fortschr. Med. *88*, 20/21: 833, 24: 923 (1970).
Ratschow, M.: Angiologie. Thieme, Stuttgart, 1959.
Reis, A., und Müller, H.: Das Kugelfallviskosimeter. Elektromed. *10*, 2 (1965).

Anschrift des Verfassers: *Th. Neuhann*, 8 München 23, Herzogstraße 48.

Lebenslauf

Am 12. Mai 1946 kam ich als erster Sohn des Augenarztes Dr. Wilhelm Neuhann und seiner Ehefrau Irmingard, geb. Zieglwallner, in München zur Welt. 1952 bis 1956 besuchte ich die Volksschule, 1956 bis 1958 das humanistische Maximiliansgymnasium in München. Von 1958 bis 1964 war ich Schüler des Kollegs „Stella Matutina“ der Gesellschaft Jesu in Feldkirch/Vorarlberg, wo ich 1964 die deutsche Reifeprüfung ablegte. Mein Medizinstudium betrieb ich von 1964 bis 1970 in München und Lausanne. 1970 legte ich in München die Ärztliche Prüfung ab.